



Evaluación y desarrollo de modelos *in vitro* para la predicción de neurotoxicidad. Aproximación proteómica a la neurotoxicidad inducida por metilmercurio.

Tesis Doctoral presentada por

Iolanda Vendrell Monell

Barcelona, 2006

CONCLUSIONES

6.- CONCLUSIONES

1.- La propuesta de métodos *in vitro* alternativos al uso de animales, para la predicción del potencial neurotóxico de compuestos químicos, contribuye al cumplimiento del objetivo de reemplazar/reducir/reformar el uso de animales de experimentación en neurotoxicología.

2.- Los métodos *in vitro* propuestos permiten evaluar el potencial tóxico de agentes químicos en la producción de axonopatías y neuropatías retardadas, de neurotoxicidad neuronal y glial, en la alteración de la transmisión nerviosa mediada por el receptor GABA_A, por los canales de sodio dependientes de voltaje o por los receptores ionotrópicos de glutamato. Las metodologías proteómicas permitirían identificar dianas proteicas de neurotoxicidad independientemente de los mecanismos de neurotoxicidad.

3.- La exposición prolongada de cultivos primarios de células granulares de cerebelo a concentraciones subcitotóxicas de Metilmercurio indujo una disminución de la expresión de la enzima succinil CoA:3-cetoácido-CoA-transferasa I. La disminución de esta enzima, implicada en el metabolismo de los cuerpos cetónicos, podría exacerbar la neurotoxicidad del metilmercurio al alterar la capacidad de utilizar los cuerpos cetónicos como fuente de energía, cuando las fuentes principales de energía están reducidas por exposición al tóxico.

4.- La exposición prolongada de cultivos primarios de células granulares de cerebelo a concentraciones subcitotóxicas de metilmercurio indujo la sobreexpresión de la variante no fosforilada de la cofilina en extractos totales de proteína y en fracciones enriquecidas con mitocondrias. Este incremento podría estar implicado en la alteración de los procesos de migración neuronal y en la muerte por apoptosis.

5.- La muerte apoptótica de neuronas granulares de cerebelo inducida por la exposición a largo plazo a concentraciones nanomolares de metilmercurio es una muerte concentración- y tiempo-dependiente. Esta muerte apoptótica cursa por mecanismos parcialmente dependientes de la liberación de la proteasa lisosomal catepsina D e independientes de la activación de caspasa 3.

6.- La muerte neuronal de los cultivos de neuronas granulares de cerebelo inducida por la exposición prolongada a concentraciones nanomolares de metilmercurio no fue protegida por el antagonista del receptor NMDA, MK-801, indicando que la muerte de las células granulares de cerebelo no es una muerte excitotóxica.

7.- La muerte neuronal de los cultivos de neuronas granulares de cerebelo inducida por la exposición prolongada a concentraciones nanomolares de metilmercurio fue protegida por antioxidantes de amplio espectro, indicando que esta muerte puede ser debida a un incremento de ROS intracelular.

8.- La exposición prolongada de cultivos primarios de células granulares de cerebelo a concentraciones nanomolares de metilmercurio produce un incremento en la peroxidación lipídica que podría derivar de la interacción directa del metilmercurio con los lípidos de la membrana celular. La peroxidación lipídica no sería un mecanismo esencial para la muerte de las células granulares de cerebelo inducida por metilmercurio.